

УДК: 519.443:[613.648.4+613.37

В.И. Лузин, В.Н. Морозов, И.В. Коржова, В.В. Волков, В.М. Болгов ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НАД- ПОЧЕЧНЫХ ЖЕЛЕЗ КРЫС ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ В БОЛЬШЕБЕРЦОВЫЕ КОСТИ БИОГЕННОГО ГИДРОКСИЛАПАТИТА

Государственное заведение «Луганский государственный медицинский университет»

Лузин В.И., Морозов В.Н., Коржова И.В., Волков В.В., Болгов В.М. Гистологические и морфометрические особенности надпочечных желез крыс при имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксилатапата // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, №4. – С.101-104.

В эксперименте на 126 белых беспородных половозрелых крысах-самцах было изучено морфо-функциональное состояние надпочечных желез после нанесения дефекта в проксимальных отделах диафиза большеберцовых костей, а также имплантации в него биогенного гидроксилатапата. Установлены закономерности адаптационных процессов в надпочечниках после нанесения дефектов в большеберцовых костях, соответствующие стадийности процессов остеорепарации. При имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапата в период до 30 дня наблюдения интенсивность данных процессов была выше. Позднее процессы восстановления протекали интенсивнее.

Ключевые слова: крысы, надпочечные железы, костный дефект, гидроксилатапатит.

Лузин В.И., Морозов В.М., Коржова И.В., Волков В.В., Болгов В.М. Гістологічні та морфометричні особливості надниркових залоз щурів при імплантації до великогомілкової кістки біогенного гідроксилатапату // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, №4. – С. 101-104.

В експерименті на 126 білих беспородних статевозрілих щурах-самцях було вивчено морфо-функціональний стан надниркових залоз після нанесення дефекту у проксимальних відділах діафіза великогомілкових кісток, а також імплантації до нього біогенного гідроксилатапату. Встановлено закономірності адаптаційних процесів в наднирниках після нанесення дефектів у великогомілкових кістках, відповідні стадійності процесів остеорепарації. При імплантації у великогомілкове кістку біогенного гідроксилатапату у період до 30 дня спостереження інтенсивність цих процесів була вище. Пізніше процеси відновлення перебігали інтенсивніше.

Ключові слова: щури, надниркові залози, кістковий дефект, гідроксилатапатит.

Luzin V., Morozov V., Korzova I., Volkov V., Bolgov V. Histological and morphometric features of adrenal glands in rats when implanted in the tibias of biogenic hydroxyapatite // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, №4. – С. 101-104.

In an experiment with 126 adult albino male rats were studied morpho-functional state of the adrenal glands after application of the defect in the proximal parts tibial diaphysis, and after implantation in it biogenic hydroxyapatite. Installed the regularities of the adaptation processes in the adrenal glands after application defects in the tibia, the appropriate step process osteoreparation. When implanted in the tibia of biogenic hydroxyapatite in a period of 30 days observing the intensity of these processes was higher. Later recovery processes is proceeded intensive.

Key words: rat adrenal gland, bone defect, hydroxyapatite.

Вступление. При переломах костей, для обеспечения процессов посттравматической регенерации наблюдается системная реакция организма, называемая «синдромом перелома», который сопровождается нарушением нейрогуморальной регуляции, структурно-функциональной организации тканей опорно-двигательного аппарата и других органов и систем [1, 8, 9].

В доступной литературе имеются сведения об изменениях эффекторного звена морфо-функционального состояния костной системы в зависимости от стадии репаративной регенерации в одной из трубчатых костей [5]. Однако, в доступной литературе сведения о морфогенезе надпочечных желез в данных условиях отсутствуют.

Цель настоящего исследования: изучить гистологические и морфометрические особенности надпочечных желез у половозрелых белых крыс после имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксилатапата без добавок.

Работа является фрагментом межкафедраль-

ной научно-исследовательской работы «Особенности роста, строения и регенерации трубчатых костей при пластике костных дефектов материалами на основе гидроксилатапата» (государственный регистрационный номер – 0103U006651).

Материал и методы. Исследование проведено на 126 белых беспородных половозрелых крысах-самцах, которые были распределены на 3 группы: 1-ю группу составили интактные животные, 2-ю группу – крысы, которым под эфирным масочным наркозом стандартным стоматологическим бором на границе проксимального метафиза и диафиза большеберцовой кости наносили сквозной дефект [5]. В 3-ей группе в область нанесенного дефекта имплантировали блоки биогенного гидроксилатапата (материал ОК-015) без добавок.

Содержание и уход за животными проводили согласно закона Украины № 3447-IV от 21.02.06 «Про захист тварин від жорстокого поводження», которые согласуются с положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных.

Животные подвергались экзтаназии на 7, 15, 30, 60, 90 и 180 сутки под эфирным наркозом, выделяли надпочечные железы, фиксировали их в 10% растворе нейтрального формалина, обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали в парафин. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3–4 мкм, которые окрашивали гематоксилином–эозином [7]. Гистологическое исследование проводили с помощью микроскопа Olympus CX–41, цифрового фотоаппарата Olympus SP 500UZ. Морфометрическое исследование полученных микрофотографий гистологических срезов надпочечных желез проводили в лицензионной компьютерной программе «Master of Morphology» [6]. На микрофотографиях измеряли ширину клубочковой, пучковой, сетчатой зон коркового вещества, ширину мозгового вещества, а также площадь и количество ядер адренокортикоцитов на 1000 мкм² в клубочковой, пучковой, сетчатой зонах коркового вещества и хромаффинных клеток мозгового вещества.

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [4].

Результаты исследования и их обсуждение. Гистологическая картина надпочечных желез интактных половозрелых крыс выглядела следующим образом (рис. 1). Соединительнотканная капсула была хорошо выражена, без признаков дезорганизации. В корковом слое надпочечных желез наблюдалось четкое деление на зоны: клубочковую, пучковую и сетчатую. Под корковым слоем находилось мозговое вещество. Под соединительнотканной капсулой располагалась клубочковая зона коркового вещества, представленная концентрическими структурами или гроздьями. Клетки этой зоны имели выпянутую форму, округлое или овальное ядро, которое располагалось эксцентрично. Также встречались ядра неправильной формы, с извитыми краями. Между клубочковой и пучковой зонами находилась переходная зона (суданофобная зона) клетки которой располагаются компактно по отношению друг к другу, образуя широкую полосу между клубочковой и пучковой зонами.

Средняя, пучковая зона коры надпочечных желез была наиболее выражена, занимала основную часть коркового вещества и представлена клеточными структурами призматической и полигональной формы. Адренокортикоциты пучковой зоны образовывали прямые, идущие параллельно друг другу тяжи, шириной в 1–2 клетки, ориентированные перпендикулярно поверхности. Ядро клеточных элементов несколько просветлено, довольно крупное, сферической формы.

Самый глубокий слой коркового вещества – сетчатый нечетко отграничен от пучковой зоны. Клетки этого слоя расположены в виде разветвленных и переплетающихся полос. Клетки с темной цитоплазмой, округлыми ядрами. Между клетками обнаружены многочисленные крове-

носные капилляры синусоидного типа. Клетки этой зоны меньших размеров, чем в пучковой зоне, неправильно округлой или угловатой формы, ядро окрашено более интенсивно.

Мозговое вещество надпочечных желез у интактных крыс контрольной группы представлено довольно крупными округлой или полигональной формы хромаффинными клетками, которые располагались многочисленными тяжами и тесно контактировали с обширной сосудистой сетью. Ядра хромаффинных клеток округлого вида и окрасились менее интенсивно, чем у клеток коркового вещества, что хорошо выявилось при окрашивании срезов гематоксилином–эозином. Ядра довольно крупных размеров. Цитоплазма просветлена, вакуолизирована.

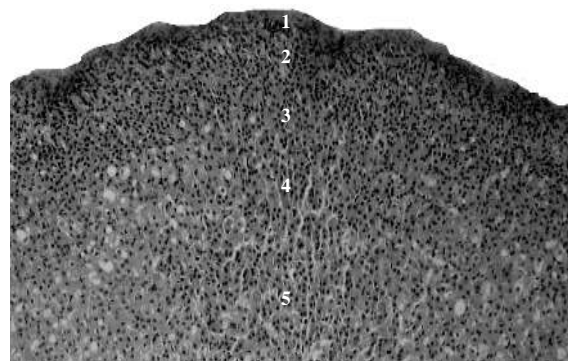


Рис. 1. Участок коркового вещества правой надпочечной железы половозрелой интактной крысы (15 сутки эксперимента): 1 – капсула; 2 – клубочковая зона; 3 – суданофобная зона; 4 – пучковая зона; 5 – сетчатая зона. Окраска: гематоксилин–эозин. Приближение: Zoom 132. Объектив: Plan C N 40x/0.25∞/-/FN22.

При морфометрическом исследовании надпочечных желез у интактных половозрелых крыс в ходе наблюдения (с 7 по 180 сутки) ширина клубочковой зоны коркового вещества возрастала от $50,61 \pm 0,60$ мкм до $69,94 \pm 0,54$ мкм, пучковой зоны – от $280,06 \pm 3,49$ мкм до $377,61 \pm 2,45$ мкм, сетчатой зоны – от $80,19 \pm 0,84$ мкм до $100,14 \pm 0,72$ мкм, а ширина мозгового вещества – от $209,03 \pm 2,11$ мкм до $310,17 \pm 2,35$ мкм. При этом, площадь и количество ядер адренокортикоцитов на 1000 мкм² в клубочковой зоне коркового вещества увеличивалось соответственно от $13,68 \pm 0,07$ мкм до $16,61 \pm 0,10$ мкм и от $7,38 \pm 0,06$ до $9,14 \pm 0,06$ мкм, в пучковой зоне – от $18,48 \pm 0,11$ мкм до $18,28 \pm 0,12$ мкм и от $5,62 \pm 0,04$ мкм до $8,63 \pm 0,07$ мкм, в сетчатой зоне – от $15,48 \pm 0,10$ до $18,28 \pm 0,12$ мкм и от $4,18 \pm 0,03$ мкм до $6,55 \pm 0,05$ мкм, а площадь и количество хромаффинных клеток мозгового вещества – от $21,12 \pm 0,15$ до $25,17 \pm 0,16$ мкм и от $3,66 \pm 0,03$ мкм до $5,10 \pm 0,04$ мкм. Полученные результаты в целом сходны с данными, описанными другими отечественными и зарубежными исследователями о возрастной динамике изменений гистоморфометрических показателей надпочечных желез у половозрелых белых крыс [9].

При нанесении сквозного дефекта в прокси-

мальном отделе диафиза большеберцовых костей гистологическое исследование показало, что основные структурные компоненты надпочечных желез сохраняются, но при этом выявляется ряд морфологических изменений: границы между зонами коркового вещества нечетко выражены, в пучковой зоне аденокортикоциты образуют неправильной формы тяжи, а строение клубочковой и сетчатой зон визуально практически не отличается от соответствующих зон коркового вещества надпочечных желез животных интактной группы (рис. 2).

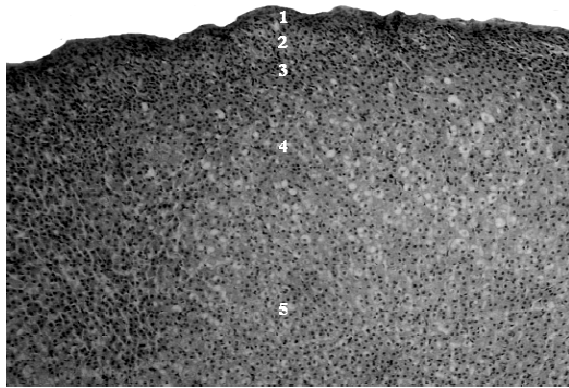


Рис. 2. Участок коркового вещества правой надпочечной железы половозрелой крысы после нанесения дефекта в большеберцовых костях (15 сутки эксперимента): 1 – капсула; 2 – клубочковая зона; 3 – суданофобная зона; 4 – пучковая зона; 5 – сетчатая зона. Окраска: гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 132. Объектив: Plan C N 40^x/0.25[∞]/-FN22.

Морфометрических исследование гистологических срезов надпочечных желез у половозрелых крыс с нанесением дефекта в большеберцовых костях показало, что все изучаемые параметры в ходе эксперимента (с 7 по 180 сутки) имели тенденцию к увеличению, по сравнению с аналогичными параметрами группы интактных крыс, более выраженное по амплитуде в ранние сроки (с 7 по 30 сутки).

Так, ширина клубочковой зоны коркового вещества возрастала с 7 по 60 сутки эксперимента на 5,60%, 7,33%, 6,20%, 3,49%, пучковой зоны – на 30 сутки на 3,65%, сетчатой зоны – с 7 по 30 сутки на 4,12%, 2,61%, 3,15% (здесь и далее все приведенные данные являются достоверными с уровнем статистической значимости $p < 0,05$).

Площадь ядер аденокортикоцитов в клубочковой зоне коркового вещества надпочечных желез была больше значений группы интактных крыс с 7 по 60 сутки на 7,37%, 6,56%, 3,74%, 3,45%, в пучковой зоне – с 7 по 90 сутки на 7,77%, 7,24%, 2,95%, 3,50%, 2,26%, в сетчатой зоне – с 7 по 30 сутки на 7,70%, 7,75%, 2,95%, а в мозговом веществе – с 7 по 60 сутки на 8,43%, 6,35%, 4,29%, 2,82% соответственно.

Количество ядер аденокортикоцитов на 1000 μm^2 в клубочковой, пучковой, сетчатой зонах коркового вещества надпочечных желез и в мозговом веществе увеличивалась с 7 по 90 сутки экспе-

римента соответственно на 10,80%, 8,71%, 6,85%, 4,31%, 3,10%, на 15,52%, 13,95%, 11,27%, 8,93%, 3,72%, на 25,18%, 25,42%, 14,47%, 5,36%, 4,89% и на 12,15%, 12,32%, 9,31%, 7,05%, 4,55%.

Микроскопическое исследование надпочечных желез при имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксилapatита без добавок выявило, что зональность строения коркового вещества не изменялась во все сроки эксперимента, по сравнению с таковой в группах интактных крыс и с нанесением дефекта в большеберцовых костях, хотя с 7 по 30 сутки наблюдалось нарушение формирования тяжей аденокортикоцитами пучковой зоны коркового вещества, которые располагались менее организованно. Однако, с 60 по 180 сутки эксперимента было установлено, что границы между зонами коркового вещества надпочечных желез становились более четкими, аденокортикоциты в пучковой зоне располагались плотно друг к другу, формируя правильные тяжи.

При имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксилapatита без добавок наблюдалось, как и в группе с незаполненным дефектом, увеличение гистоморфометрических параметров надпочечных желез половозрелых крыс, однако более выраженное по амплитуде с 7 по 30 сутки эксперимента. Далее, с 60 по 180 сутки имело место уменьшение их значений с приближением к показателям группы интактных крыс к 180 суткам эксперимента.

Так, ширина клубочковой зоны коркового вещества увеличивалась, по сравнению с показателями группы интактных крыс, с 7 по 60 сутки эксперимента на 9,33%, 10,64%, 9,73%, 5,31%, пучковой и сетчатой зон – с 7 по 30 сутки соответственно на 4,80%, 3,08%, 3,77% и на 6,03%, 3,92%, 4,06%, а ширина мозгового вещества – с 7 по 15 сутки на 3,84%, 5,77%.

Площадь ядер аденокортикоцитов в клубочковой, пучковой, сетчатой зонах коркового вещества и хромаффинных клеток мозгового вещества возрастала с 7 по 30 сутки эксперимента на 14,76%, 9,01%, 4,43%, на 13,79%, 12,31%, 5,55%, на 9,47%, 7,47%, 5,48% и на соответственно.

Количество ядер аденокортикоцитов в клубочковой, пучковой, сетчатой зонах коркового вещества и хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечных желез также было больше, чем у интактных крыс, с 7 по 30 сутки эксперимента соответственно на 19,35%, 14,57%, 10,29%, на 26,79%, 26,04%, 13,29%, на 31,83%, 30,60%, 17,85% и на 30,75%, 24,34%, 18,61%.

Далее площадь ядер аденокортикоцитов в пучковой зоне коркового вещества уменьшалась, по сравнению с данными группы интактных крыс, на 90 сутки на 4,39%, в клубочковой зоне – на 180 сутки на 4,03%, хромаффинных клеток в мозговом веществе – на 90 сутки на 4,50%. Количество ядер аденокортикоцитов на 1000 μm^2 в клубочковой зоне коркового вещества снижалось на 90 сутки эксперимента на 3,87%, в пучковой зоне – на 3,04%, а хромаффинных клеток мозгового вещества – на 6,89%.

Сравнение полученных результатов с параметрами группы с нанесением дефекта в большеберцовых костях показало, что ширина клубочковой зоны коркового вещества увеличивалась с 7 по 30 сутки эксперимента на 3,53%, 3,08%, 3,33%, пучковой зоны – на 7 сутки на 3,29%, мозгового вещества – на 15 сутки на 4,27%.

Площадь ядер адренокортикоцитов в клубочковой зоне коркового вещества возрастала на 7 сутки на 6,88% и уменьшалась на 60 сутки на 3,37%, в пучковой зоне – увеличивалась с 7 по 15 сутки на 5,58%, 4,72% и снижалась на 90 сутки на 6,50%.

Количество ядер адренокортикоцитов на 1000 мкм² в клубочковой, пучковой и сетчатой зонах коркового вещества увеличивалось с 7 по 15 сутки на 7,71%, 5,39%, на 10,04%, 10,61% и на 5,31%, 4,13% соответственно и уменьшалось с 60 по 90 сутки на 5,28%, 6,76%, на 7,89%, 6,51% и на 4,40%, 6,67%.

Количество ядер хромаффинных клеток на 1000 мкм² в мозговом веществе было больше показателей 2-й группы с 7 по 30 сутки на 16,59%, 10,70%, 8,51% и меньше с 60 по 90 сутки на 4,27%, 10,95%.

Заключение. Таким образом, нанесение сквозного дефекта в проксимальном отделе диафиза большеберцовых костей сопровождается качественными изменениями гистологического строения надпочечных желез половозрелых крыс, а также достоверными количественными изменениями морфометрических параметров их структурных составляющих, которые были больше аналогичных показателей в группе интактных животных. Максимальные по амплитуде отклонения изучаемых параметров наблюдались на стадии воспаления и формирования клеточной бластемы (что соответствует 3-15 суткам после нанесения дефекта) [2], после чего на стадии реорганизации тканевых структур, минерализации кости и ремоделирования (что соответствует 24-45 суткам после нанесения костного дефекта) их значения постепенно приближались к параметрам группы интактных животных. Имплантация в костный дефект гидроксилатапатитного материала ОК-015 в период до 30 дня эксперимента сопровождалась манифестацией выявленных изменений, а с 60 дня наблюдения – более быстрым восстановлением исследуемых показателей.

Перспективы дальнейших исследований.

В дальнейшем планируется изучить качественные и количественные изменения гистологического строения надпочечных желез половозрелых крыс

после имплантации в большеберцовые кости биогенного гидроксилатапатита, насыщенного солями различных металлов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барабаш А.П. Постагрессивные системные реакции организма при переломах длинных костей / Барабаш А.П., Гордиенко В.П., Барабаш Ю.А. – Иркутск: «РИГ ИТО НЦ РВХ ВСНУ СО РАМН», 2000. – 129 с.
2. Корж Н.А. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации / Н.А. Корж, Н.В. Дедух // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2006. – №1. – С. 76–84.
3. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. [и др.] – К.: «Вища школа», 1983. – 383 с.
4. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. – Киев: «Морион», 2000. – 320 с.
5. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных / В.И. Лузин, Д.В. Ивченко, А.А. Панкратьев [и др.] // Украинский медицинский альманах. – 2005. – Т. 8, № 2 (дополн.). – С. 162.
6. Овчаренко В.В., Маврич В.В. Компьютерная программа для морфометрических исследований «Morpholog» / Свідоство про реєстрацію авторського права на твір № 9604, дата реєстрації 19.03.2004.
7. Саркисов Д.С. Микроскопическая техника: Руководство для врачей и лаборантов / Саркисов Д.С., Перов Ю.А. – М.: «Медицина», 1996. – 544 с.
8. Effect of different types of stress on adrenal gland parameters and adrenal hormones in the blood serum of male Wistar rats / M. Adžić, A. Djordjević, J. Djordjević [et al.] // Arch. Biol. Sci., Belgrade. – 2009. – Vol. 61 (2). – P. 187-194.
9. Eshkevari L.L. Acupuncture blocks cold stress-induced increases in the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in the rat / L.L. Eshkevari, E. Permaul, S.E. Mulrone / Journal Endocrinology. – 2013. – Vol. 217 (1). – P. 95-104.

*Надійшла 17.09.2013 р.
Рецензент: проф. В.М. Волошин*